

* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1. This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
2. *** shows the word which can not be translated.
3. In the drawings, any words are not translated.

CLAIMS

[Claim(s)]

1. How to promote antimicrobial activity of said product by making buffer system which includes imidazole or imidazole derivation object in product containing isothiazoline or nitrobramo compound contain.
2. Method of given in the 1st paragraph of claim, wherein said antimicrobial compound contains both isothiazoline and nitrobramo compound.
3. Method of given in the 2nd paragraph of claim, wherein said product is diagnostic reagent for medical examination.
4. Method of given in the 3rd paragraph of claim, wherein said isothiazoline is mixture of 5-chloro-2-methyl-4-iso thiazoline 3-one and 2-methyl-4-iso thiazoline 3-one.
5. Method given in the 4th paragraph of claim being while concentration of said isothiazoline group is one to 25 ppm of solution.
6. Method given in the 5th paragraph of claim being while said concentration is ten to 25 ppm.
7. Method given in the 6th paragraph of claim being while said concentration is 16 to 20 ppm.
8. Method of given in the 3rd paragraph of claim, wherein said nitrobramo compounds are 5-bromo-5-nitro 1 and 3-dioxane.
9. Method of given in the 8th paragraph of claim, wherein said 5-bromo-5-nitro 1 and 3-dioxane exist by concentration between 30 to 250 ppm of solution.
10. A method of given in the 9th paragraph of a claim, wherein said 5-bromo-5-nitro 1 and 3-dioxane exist between 100 to 250 ppm of a solution.
11. A method of given in the 10th paragraph of a claim, wherein said 5-bromo-5-nitro 1 and 3-dioxane exist between 180 to 220 ppm of a solution.
12. A method of given in the 1st paragraph of a claim, wherein said buffer system exists with 5 to 70 mmol/l solution.
13. A method of given in the 12th paragraph of a claim, wherein said buffer system exists with 40 to 60 mmol/l solution.
14. A method of given in the 13th paragraph of a claim, wherein said buffer system exists by 48 to 58 mmol/l.
15. Are based on making a buffer system which comprises imidazole or an imidazole derivation object in a diagnostic reagent for medical examination contain. A mixture of 5-chloro-2-methyl-4-iso thiazoline 3-one in which it is a method and said antimicrobial compound exists by concentration of of one to 25 ppm (1), and 2-methyl-4-iso thiazoline 3-one which promotes the antimicrobial activity of said diagnostic reagent for medical examination, And a method which is the 5-bromo-5-nitro 1 and 3-dioxane which exist by concentration of (2)30-250ppm, and is characterized by said buffer system existing by concentration of 48 to 58 mmol/l.
16. How to stabilize a reaction of a glucose or lactic acid electrochemical biosensor by using a reagent including imidazole or its derivation object.
17. A method of given in the 16th paragraph of a claim, wherein said reagent contains a hydrophilic surfactant additionally.
18. A method of given in the 17th paragraph of a claim, wherein said hydrophilic surfactant has 18 or more HLB.
19. A method of given in the 18th paragraph of a claim, wherein said surface-active agent is polyoxyethylene (100) stearyl ether.

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

- 1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.
- 2.*** shows the word which can not be translated.
- 3.In the drawings, any words are not translated.

DETAILED DESCRIPTION

[Detailed Description of the Invention]

Reagent outline which has the performance promoted in the diagnostic system for medical examination
Imidazole and a related buffer, For example, the mixture of (1)5-chloro-2-methyl-4-iso thiazoline 3-one and 2-methyl-4-iso thiazoline 3-one, Or it became clear to promote the activity of the specific antiseptic used in diagnostic reagents for medical examination, such as the (2)5-bromo-5-nitro 1 and 3-dioxane. It was also discovered that specific surface-active agents, such as these buffers, BRIJ700, and a related hydrophilic surfactant, promote the precision and accuracy of an enzyme biosensor.

Background The diagnostic instrument for medical examination is used in order to measure the existence of an analysis object and quantity in the Homo sapiens blood, a blood serum, and other fluids. Although sodium, potassium, calcium, chlorine, other electrolytes, glucose, lactic acid, cholesterol, lipid (triglyceride etc.), uric acid, etc. are contained in the analysis object which should be measured, it is not limited to this. In addition, an instrument is used also for measurement of the concentration of the gas which is dissolving into pH and these fluids. Many other analysis objects and attributes (attributes) are also measured with these instruments. A new theory which is an index of human health condition and which is physical and identifies chemical property is discovered frequently, and the analytic art for these new attributes is developed for the use in these instruments. The actual component of the instrument which determines the concentration of the analysis object which is an object of concern is often called an electrode or a sensor. Although typical measurement of the analysis object for these sensors is electrochemical, it is optical or may be participating in measurement of physical or other chemical nature. A sensor may sometimes be ***** and unifies some systems. For example, one enzyme is combined with the sensor matrix and the ingredient which carries out the catalyst of the decomposition, continues by that cause, and may be measured in an analysis object may be generated.

The measurement in which the analysis object succeeded is influenced by the interaction of an instrument, a sensor, and a reagent. Although especially the reagent is important, that is because a reagent influences the performance of both a sensor and an instrument. Into some of reagents required for execution of the analysis on the diagnostic instrument for medical examination. Calibration sample (for fixing the predetermined reactive site of an instrument to the concentration so that it can assay using the above-mentioned calibrator) The reagent blended so that the analysis object which is an object of concern might be included by specific concentration, Contrast products (product for determining whether it is assayed with the sample for analysis and assay is acting appropriately) and the analytical reagent (a buffer, chemical reaction material, etc. are included) which causes bringing about a chemical or physical reaction with an analysis object are contained. The washing solution for washing a test sample from an instrument is contained in other reagents. or [that some of these reagents contain the environment of the ingredient measured] — or it is blended into the environment to stimulate. (For example, a certain thing may be blended into the blood serum of specific ionic strength and specific pH, and other things may have contents of specific lipid compatibility.) The reagent of these is the same kind as the reagent used for assay by hand control of thing.

And although it is concentrating on the reagent for the diagnostic instrument for medical examination which so contains that by which the argument here was automated, the same thing can apply to the analytical skills in hand control.

Many of above-mentioned reagents are blended with the preservative, in order to prolong those storage lives, but this is because the reagent contains the nutrition which will assist microbial growth. When a buffer with specific this application, imidazole, or its derivation object ** is used into a compound, it is related with the efficiency of a preservability system in which the place discovered unexpectedly was

mixed that performance is promoted. This application is related with how these buffers and a specific surface-active agent, and Brij700 promote the precision and accuracy of an enzyme biosensor. EP-A-467337 is indicating the preservation system for the test kit for diagnosis containing at least two preservatives. However, the buffer which promotes antimicrobial activity is not specified. Although it is indicating that GB-A-2018989 uses imidazole in stabilization of the uric acid solution for using in proofreading of the diagnostic test for medical examination, it is unrelated to stabilization of the electrochemical reaction in a biosensor according to this invention. DD-A-237325 is not suggested about stabilizing the electrochemical reaction of the biosensor to an aqueous calibration sample, although use of the imidazole as a stabilization medium of heme enzyme is indicated. Using in order for Clinical Chemistry Vol.25-1,1979 and Pages 127-129 to stabilize the reagent solution for the polarograph determination of the glucose which used the Beckman analyzer for the nonionic detergent is indicated. The nonionic surfactant specified in this specification is used as a wetting agent. Other advanced technology in relation to this literature and surface-active agent, It has proposed using it not as the thing which suggests the use in the method of stabilizing the reaction to a biosensor but as a thing from which they remove the blood sample from test equipment as a wetting agent for the detergent effect rather, for example. Usually, when selection accomplishes for humidification nature and detergent nature, a surface-active agent has little hydrophilic nature / oleophilic balance, and is chosen from 18. There is nothing that suggests using the surface-active agent of the specific mold which has 18 or more HLB in the method of this invention which works so that the surface-active agent may stabilize the electrochemical reaction of a biosensor in the advanced technology.

The easy explanatory view 1 of the drawing shows the buffered reaction to a glucose biosensor without glucose diffusion restriction membrane by which vs buffer is not carried out. Drawing 2 shows the improved stability in the sensor reaction to imidazole in comparison with other common buffers used in the diagnostic reagent for medical examination. Drawing 3 shows % change (positive drift) in the sensor reaction covering the blood sample of 10 as a function of surface-active agent HLB with the result obtained on the lab-bench test system. Drawing 4 shows comparison of the performance of a certain glucose biosensor with Brij35 and Brij700. Drawing 5 shows equimolar and the sensor reaction to Brij35 and Brij700 of the same mass.

Detailed explanation The reagent used for the purpose of the diagnosis for medical examination, Various ingredients (in for example, quantity sufficient in order to provide the level of a request of sodium chloride, potassium chloride, calcium acetate, sodium acetate, and others of specific ion), i.e., a salt, various metabolite (for example, glucose and lactic acid), a surface-active agent, a buffer, and water are included. No reagents contain all these ingredients and other reagents contain additional contents. Especially the thing marketed often contains 1 or the preservative beyond it in order to prolong those storage lives. Note that he is a candidate for incorporating any metabolite into this product. However, there are some reactivity and the interaction relations which require what is noticed about some beforehand [special]. For example, probably some protein, such as albumin, always will not be stable in a solution, and it will be required to store an unstable solution all over a refrigerator potentially. In addition, it combines with a preservative and, so, some protein decreases the latter validity.

Various concentration of the analysis object was prepared with the product. the usual level of an analysis object with which the target of concentration is generally seen in a body — or it is in any of an abnormal level (low and the increased level are included). What may be used in order for some contrast products (for example, usually or abnormalities) to determine whether a sensor functions with both concentration levels may be prepared. For example, about chlorine, the usual range expected is 70-120 mmol/l, and it is measurable over the range of 30 to 150 mmol/l in the sensor in a typical instrument. "Usual" contrast may be blended by 100 mmol/l and the contrast "was increased" by one side may be blended by 140 mmol/l. There is countless combination of the analysis object which may be blended with contrast products by the necessity for a laboratory. Of course, to check existing on a low level on which the analysis object with a possibility of interfering in the analysis of an analysis object in which it is interested is eliminated or which has the minimum cross protection at least must be warned. in preparation of contrast of chlorine — a nitrate and nitrite salt — exclusion — or it must be minimum-ized. In addition, the factor which blocks stability and the ease of manufacture should be avoided.

When used by a diagnostic reagent, there is the side of some important surface-active agents which should be taken into consideration. There are profits derived by containing a surface-active agent in the 1st, it improves washing of a part of instrument which touched samples, such as a course of an instrument, or a sensor, for example, and contamination of samples is decreased. In selection of a surface-active agent, it is [2nd] important that it determines whether a sensor and coexistence are possible. Generally the surface-

active agent is used [3rd], in order to optimize the performance of an instrument and a sensor (for example, control of a fluid, a wet rise (wet-up), or humidification of a sensor surface). The hydrophilic nature/lipophilic property of a surface-active agent are included in the whole surface of the surface-active agent by which it must be evaluated in order to make compatibility with a diagnostic system into a positive thing. Polyoxyethylene (100) stearyl ether will be considered in a surface-active agent. (In this, it is [other ICI Americas and supply origin] available as BRIJ700 clitteringly.) This surface-active agent acts on both a sensor and an instrument with its hydrophilic lipophilic character. Although lipophilic character is often desired in a diagnostic system, that is because the wet rise (hydrogenation) of a biosensor which requires an oleophilic biological sample and water transport is improved. On the other hand, in some systems, such as blood gases and an ion susceptibility electrode (ISE), in order that suitable hydrophilic nature / oleophilic balance may prevent humidification and extraction of a sensor of an important ingredient, it is required. A surface-active agent is characterized by those hydrophilic nature / oleophilic character, or balance (HLB), and it is a measure of the relative amount of hydrophilic character. The HLB value of a nonionic surfactant is in the range of 0 to 20, and 0% of hydrophilic character is expressed in 0 in there. Have a surface-active agent generally used for a diagnostic reagent, and HLB in the range of 13-17 for the example of such a surface-active agent generally used. TRITONX-100 (more nearly available than octylphenoxy PORIETOKISHI ethanol, Union Carbide Chemicals and Plastics Co., and Inc.), 13. ; which has HLB of 5 — BRIJ 35 (polyoxyethylene (23) lauryl ether.) available from ICI Americas — HLB; of 16.9 and HLB; of TWEEN 20 (available from polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate and ICI Americas) 16.9 are contained.

When a hydrophilic surfactant (BRIJ700 grade) was added by washing and the calibration sample solution, it became clear that the precision and accuracy by which the biosensor was promoted between biological sample measurement were provided. The reagent containing the lipophilic surface-active agent of TRITON X-100 and BRIJ35 grade, when the sensor reaction to a desired analysis object was reduced (namely, — inclination decreases) and a biological sample was made to contact repeatedly, the sensor caused that a drift was shown. It is believed that the sensor facilitatory effect of BRIJ700 relates to the pause between the hydrophilic nature / oleophilic balance of a surface-active agent and the liquid phase, and a sensor. Although some were probably dependent on construction of an electrode, the lipophilic surfactant would have the big tendency to divide, and to emit from an aquosity calibration sample to a sensor to lipophilic samples (blood etc.) from a hydrophilic surface-active agent continuously. It is also believed that it may realize that surface-active agent BRIJ700 conveys a buffer kind to a sensor electrode.

In the technical actual condition, use of a surface-active agent should be careful of being what brings instability to the performance of specific biosensors, such as glucose and lactic acid. (Please refer to p.C-3 in Yellow Spring Instrument, glucose lactic acid analyzer user manual, and model 2300 Stat plus and February, 1992.) As this invention was shown, Without encountering disadvantageously, since [using the useful character of a surface-active agent] we were quoted by the literature of Yellow Spring Instrument, we discovered the method of using a surface-active agent.

There are same profits also in many of other sensors which are used in the analyzer for medical examination about BRIJ700 and the related surface-active agent in addition to the profits shown on the above-mentioned biosensor. In many cases, probably, failure of a sensor is especially caused also about ** potassium at extraction of the ingredient beyond calcium, 1 by the lipophilic surfactant and a protein content biological sample, or it. What the related hydrophilic surfactant of BRIJ700 and others will prolong the use life of these sensors for by important reduction of the rate of a sampling ratio of an ingredient which is a key is believed.

The preservative in which many differed has been used in a diagnostic reagent. Although (a)5-chloro-2-methyl-4-iso thiazoline 3-one, (b)2-methyl-4-iso thiazoline 3-one and the (c)5-bromo-5-nitro 1, 3-dioxane, etc. are contained in these, it is not necessarily limited to this. (a) And the mixture in about 3:1 ratio of (b) is marketed from Rohm & Haas with various trade names of KATHON CG, PROCLIN 300, and PROCLIN 150 grade.

With other elements which do not influence the stabilizing agent and the activity contents which were used for combination of the mixture, they change mutually.

The whole family (here, "Kathon" is called) of this product is a member of a class known as isothiazoline. The class of this whole of that performance is typical.

From Henkel, the preservative (c) is marketed as the **** names Bronidox L (when liquefied) and BRONIDOX K (crystal), and is called "Bronidox" here. Bronidox is a member of a class known as a nitrobromo compound.

It acts as the representative.

In order to ensure for many products used for medical-examination assay to be those from which the chemical reaction to produce is expected, Or in order to imitate pH of the biological liquid currently assayed, or in order to ensure the reaction of a stable biosensor, pH must be controlled by which purpose of **. Contrast and especially a calibration sample are blended as much as possible soon so that a blood serum or other body fluid which are analyzed may be suited.

As a result, the buffer is used in many diagnostic reagents for medical examination. Once pH of a request of a reagent becomes clear, the chemist has many buffers which should be chosen from there. Typically in the pH range of 6.5 to 7.5, phosphoric acid; which will be set to one of the followings [buffer] — ACES;ADA; (2-aminoethyl) trimethylammonium chloride; — arsenic acid; — BES;N and N' - bis(3-sulfopropyl)ethylenediamine; bis-tris; bis-tris propane; 2, 3-dihydroxypropyl-tris-(hydroxymethyl) methylamine; Dimethylamino ethylamine;3 and 6- and the methylene- 1, 2, and 3, 6-tetrahydrophthalic acid; ethylenediamine; glycerol 2-phosphoric acid;HEPES;MOPS;MOPSO;p-nitrophenyl ;P IPES;TES;TRIS;. And 2, 4, 6-trimethyl pyridine. () [Perrin et al, Buffers for pH and Metal Ion Control and] Please refer to it for 1974, Chapman & Hall, Ltd., p.161, and the compound name of a buffer. However, although they can control pH in the pH range of 6.5 to 7.5, a certain kind of puffer, It is not thought that it is suitable for use in a biological system. for example, although imidazole has electric dissociation exponent of 6.75 at 37 **, in the biological system, it is reactivity too much and is considered to be unstable by that it comes out enough and is. (Please refer to Perrin et al, the above, and p.59.)

Although it was suspected that the imidazole could not coexist with biological assay until now, promoting Kathon, Bronidox, and the antimicrobial activity of many preservatives containing those mixtures was discovered unexpectedly. Although imidazole does not have which publicly known antimicrobial character in itself (it checked that the activity of preservability was not seen although examined as a part of this research), the use in the above-mentioned system as that buffer improves the antimicrobial capability of a preservative.

The desirable product for diagnosis in which the improvement is shown in antimicrobial activity, It has pH (electric dissociation exponent of about 6.00 to 8.00) in the range of about 6.5 to 7.5, Having ionic strength; of the range of buffer capacity;0.150 to 0.230 of 5 to 50 mmol/l, an electrolyte value is the range of usual Homo sapiens (Na⁺ of 100-150mmol, K⁺ of 2.0-8.0 mmol/l, Cl⁻ of 70-120 mmol/l, and 0.).

5-2. It was Ca⁺ of 00 mmol/l. As for it having become clear that preservability activity was promoted, it became clear that not only imidazole but the related buffers (4-methyl imidazole etc. which has electric dissociation exponent of 7.24 at 37 **) also had the same effect.

In order to evaluate the preservability capability of a product, a series of examinations were done. The same examination should be careful of being called an antimicrobial preservation efficiency test although it was defined as the purpose of this examination being evaluation of preservability capability the 1st. (Please refer to the details of the U.S. pharmacopeia for the minimum inhibition concentration (Media Interface Connector), the minimum sterilizing concentration (MBC), or a preservability administration (PC) examination.) Each preservative has a peculiar fingerprint of operation activity, when the combination of the range of a broad microorganism is taken into consideration. Although the examination done here is countless and only some microorganisms were used, an operation on these microorganisms is considered to represent the operation on a broad microorganism. The microorganisms examined here are Staphylococcus, Pseudomonas, mold, yeast, and a gram-positive Bacillus, and that is because it is thought that these are groups which encounter easiest in composition of the products (contrast products etc.) currently taken into consideration, use, and storage. In the following examples, details argue about the actual microorganism used in the examination more.

One mold of the examination done in order to evaluate antimicrobial validity included the examination for measuring the end of a shelf life. A preservative is made for this examination to get worse by various concentration, and it evaluates validity until activity is no longer seen with various concentration levels. Thus, the more the effective concentration of a preservative is low, the more the preservation system is often functioning.

Some preservatives of a class known as azole relate to imidazole chemically, and have antimicrobial activity in the mold of the investigated product. However, many azoles (4-(2-benzimidazolyl) thiazole etc.) are the sakes of appearance and solubility. In some products, it did not put into the idea as a preservative. On the other hand, imidazole and its related buffer did not have antimicrobial activity.

Large Bronidox and Kathon of the range had those activity promoted by the imidazole of various levels. It became clear that the imidazole of about five to 70 mmol/l promoted the preservation ability of Bronidox of

about 30 to 250 ppm and/or Kathon of about one to 25 ppm. (Please care about that there is different Kathon of some from which the mold of main stabilizing agents differs.) It seemed that what most is especially called for Kathon SF (or KSF) and ProClin 300 could use it in this invention. Preferably, the imidazole of about 40 to 60 mmol/l was used in order to promote the capability of Bronidox of about 100 to 250 ppm, and/or KSF of about ten to 25 ppm. The presentation of the most desirable contrast products is the imidazole of about 48 to 58 mmol/l used in order to promote the capability of Bronidox of 180 to 220 ppm, and/or KSF of about 16 to 20 ppm.

It examined on the solution used in various instruments containing what used the sensor or the electrode for the compatibility of a preservative and various buffers in both hand control and the automated procedure. The observed harmful influence did not exist in which sensor or which other instruments. Biosensors [as opposed to / advantage / which was additional / of imidazole and a related buffer / , and unexpected / an aqueosity calibration sample in these buffers] (glucose etc.)

It is stabilizing *****. Although the mechanism is not understood yet, it is believed that these buffers are controlling pH of a local sensor to fitness from the conventional diagnostic buffers for medical examination, such as phosphoric acid and a both sexes buffer. Although control of pH is important for the performance of a biosensor, that is because both an enzyme and peroxide oxidation reaction may generate acid between an enzyme / analysis object reaction, and a peroxide detection scheme and it shows pH dependency. When it starts by pH of 6.8, peroxide oxidation and typical biosensor enzyme (glucose oxidase, lactic acid oxidase) show the activity/sensitivity which decreased as pH decreased, but this is because it was generated by acid. Probably, in a certain environment which is not buffered, typical biosensors, such as a thing to glucose or lactic acid, show the reaction which decreased when an analysis object was made to contact. Please refer to drawing 1 in which the reaction to the aqueosity glucose sample for a glucose biosensor without the buffered glucose diffusion restriction membrane by which vs buffer is not carried out is shown in the unit of the time in a current vs second. (, i.e., the maximum points of a graduation, whose unit of current is nanoampere is 350 nanoampere.) The experiment which followed the glucose oxidase sensor shows that both buffer capability and a kind influence the stability of a sensor during measurement. Drawing 2 shows that the inaction is decreasing substantially to imidazole as compared with other common buffers used in the diagnostic reagent for medical examination. (Drawing 2 shows % fall of the glucose read about some buffers.)

The following examples show various modes of promotion of the biosensor reaction by promotion of the preservative activity by imidazole and the related product, the buffer, BRIJ700, and the related surface-active agent. Those changed types are obvious to a person skilled in the art. It does not have intention of these examples in order to restrict the usefulness of this invention.

Combination of example 1 contrast products: Some analysis objects were blended with the following

| 比較配合物 | | | | | | | |
|-------------|--------|------|------|------|------|------|------|
| 化学物質 | 単位 | A | B | C | D | E | F |
| イミダゾール | mmol/L | 53 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| 4-メチルイミダゾール | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| MOPS | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| HEPES | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 |
| NaCl | mmol/L | 67.6 | 91.1 | 96.0 | 96.0 | 96.0 | 91.4 |
| 酢酸ナトリウム | mmol/L | 72.4 | 48.9 | 44.0 | 42.1 | 41.2 | 48.6 |
| KCl | mmol/L | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 |
| 酢酸カルシウム | mmol/L | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 |
| 濃塩酸 | mmol/L | 28.4 | 2.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.0 |
| NaOH, 10N | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 1.9 | 2.8 | 0 |
| 酢酸リチウム | mmol/L | 0.0 | 45.5 | 12.3 | 50.3 | 50.3 | 50.3 |
| グルコース | mmol/L | 10.0 | 10.0 | 0.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| 乳酸リチウム | mmol/L | 2.0 | 2.0 | 0.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| PROCLIN 300 | ppm | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 |
| BRONIDOX K | ppm | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 界面活性剤 | % | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |

contrast products. :

These products were prepared by agitating until it dissolves a reagent in water and all dissolve thoroughly. It is careful necessity in order to ensure for all the ingredients especially the surface-active agent, and the

preservative to have dissolved thoroughly. The pH of a solution must be suitable in order to maintain the stability of each actually added ingredient and to make the dissolution possible.

Analysis of example 2 contrast products: Contrast products were examined by using them within manual assay and on the instrument with which they are used. The numerical value was specified by examining over some instruments or the process of manual assay. The numerical value was specified as the calibration sample with the substitute recognized about the reference method or each analysis object. for example, the value of sodium and potassium — flame — it was specified with the spectrum.

| 分析対象の値 | | | | | | | |
|-------------|--------|------|------|------|------|------|------|
| 変数 | 単位 | A | B | C | D | E | F |
| pH | pH | 6.8 | 6.8 | 7.15 | 6.8 | 7.4 | 7.4 |
| イオン強度 | mmol/L | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| ナトリウム | mmol/L | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 |
| カリウム | mmol/L | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 |
| カルシウム | mmol/L | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 |
| 塩素 | mmol/L | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| グルコース | mmol/L | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| 乳酸 | mmol/L | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| バッファー濃度 | mmol/L | 53.0 | 5.0 | 0.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| PROCLIN 300 | ppm | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 |
| BRONIDOX K | ppm | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |

Storage life of example 3 product The storage life of a product is one measure of the validity of a preservative system. Selectively, storage life is based on the MBC/PC examination in the end of a life for realizing the minimum concentration required in order to bring about total destruction of the living thing selected in 24 hours. Such concentration continued, it was used in the Arrhenius analysis, and the reagent determined whether to be how much long usable. Longer storage life is expected about a more effective preservative system. In addition, in the end of life test, that preservative system is so more effective that concentration required in order to attain this sterilization is low. Please refer to the table of the following which evaluated two different buffer system. (The examination in the end of a life shows the minimum quantity of the preservative required in order to annihilate a microorganism within 24 hours.) It is shown, as for the concentration in the low end of a life, imidazole is promoting the validity of Kathon rather than being observed under imidazole buffer existence therefore. (Please come out in equivalent amount as substantially as 30.5 ppm in the end of a life, and notice 33.7 ppm about a certain thing.)

| バッファー | 貯蔵寿命 年@25℃ | | 寿命の終り MBC/PC (PPM) | |
|--------|---------------|----------|-----------------------|----------|
| | KATHON | BRONIDOX | KATHON | BRONIDOX |
| MOPS | 0.8 | 1.3 | 6.23 | 30.5 |
| イミダゾール | 2.3 | 3.7 | 1.30 | 33.7 |

Use of example 4 glucose biosensor: The biosensor experiment was set they to be [any of a lab-bench manual sample injecting system or the analyzer for medical examination], and was conducted using the glucose sensor. The used glucose sensor was a three-pole device which comprises a platina counter electrode with a platina carbonizing matter anode, refer to Ag/AgCl, and it. The anode was filled up with enzyme glucose oxidase (GOD) by mixing between the absorption to the surface, or anode manufacture. The biosensor is protected from putrefaction with glucose limit films, such as which film etc. of the others known by silicon, polyurethane, cellulose acetic acid, Nafion, polyester sulfonic acid (Kodak AQ), hydrogel, or the person skilled in the art, for example.

Influence of the effect of a surface-active agent on the reaction of a biosensor: It evaluated in order to determine those effects as opposed to the reaction of typical biosensors (glucose etc.) for the reagent containing surface-active agent TRITON X-100 and BRIJ35. Data is shown in the following tables and TRITON X100 decreased inclination rather than BRIJ35.

| 校正試料の界面活性剤 | グルコースセンサー 勾配— $\mu\text{A}/\text{mg}/\text{dL}$ | %変化 |
|-------------|----------------------------------------------------|------|
| 界面活性剤なし | 0.69 | 0 % |
| BRIJ 35 | 0.63 | 9 % |
| TRITON X100 | 0.54 | 22 % |

When the biological sample to repeat was made to contact after carrying out conditioning of the surface-active agent, the sensor showed the positive drift in inclination. It became clear that the scale of a drift was directly correlated with HLB of a surface-active agent. Drawing 3 shows % change (positive drift) in the sensor reaction covering the blood sample of 10 as a function of HLB of a surface-active agent with the result obtained on the lab-bench system. When this data is contacted by the surface-active agent which has HLB with a larger sensor than 18, it is shown that a drift is comparable as what is obtained when neither of the surface-active agents exists, or there are. [few] BRIJ700 which is a desirable surface-active agent for this invention minimum-izes the drift of a sensor over the life of a sensor. (Drawing 4 shows comparison of the performance of the glucose biosensor about BRIJ35 and BRIJ700 using the unit of the time in % drift vs days.) Each time shows the data about four sensors by which each surface-active agent system is evaluated. The concentration of a surface-active agent is also important, The drift which decreased [35 / which was increased / BRTJ] to the acquired drift which was increased about BRIJ700 in the increased concentration is shown. This shows the sensor reaction which is shown in drawing 5 and shown with equimolar and % drift over BRIJ35 and BRIJ700 of equal mass. Although the concentration evaluated about BRIJ700 suited 0.01–1.0wt% of the range, the desirable range was proved that it is 0.1–0.3wt%.

The proofreading for providing the performance by which the diagnostic sensors for medical examination (enzyme biosensor etc.) were promoted, and combination of a washing solution are shown below.

| 化学物質 | 単位 | 校正試料 | 洗浄 | 範囲 | 好ましい範囲 |
|----------|------------------------|------|-----|----------|---------|
| イミダゾール | mmol/L | 53.0 | 0.0 | 10–100 | 40–60 |
| BRIJ 700 | %wt | 0.2 | 0.2 | 0.01–1.0 | 0.1–0.3 |

[Translation done.]

* NOTICES *

JPO and INPIT are not responsible for any damages caused by the use of this translation.

1.This document has been translated by computer. So the translation may not reflect the original precisely.

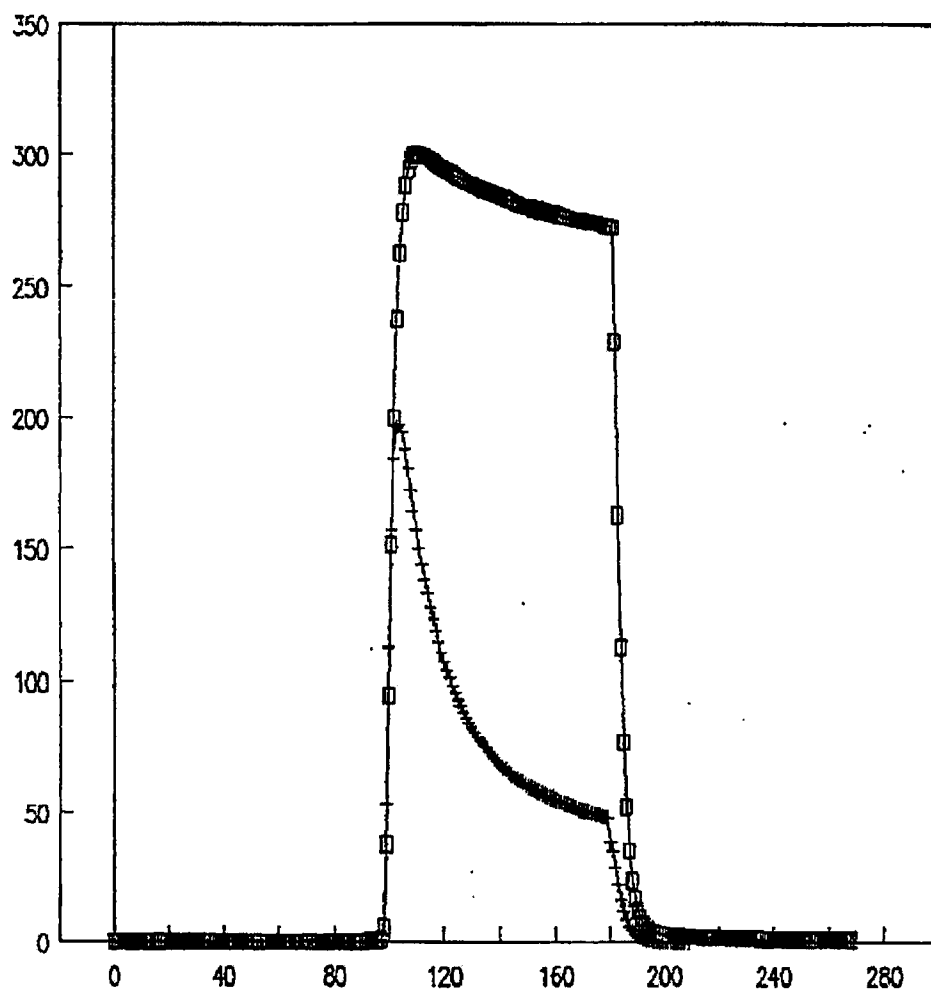
2.*** shows the word which can not be translated.

3.In the drawings, any words are not translated.

DRAWINGS

[Drawing 1]

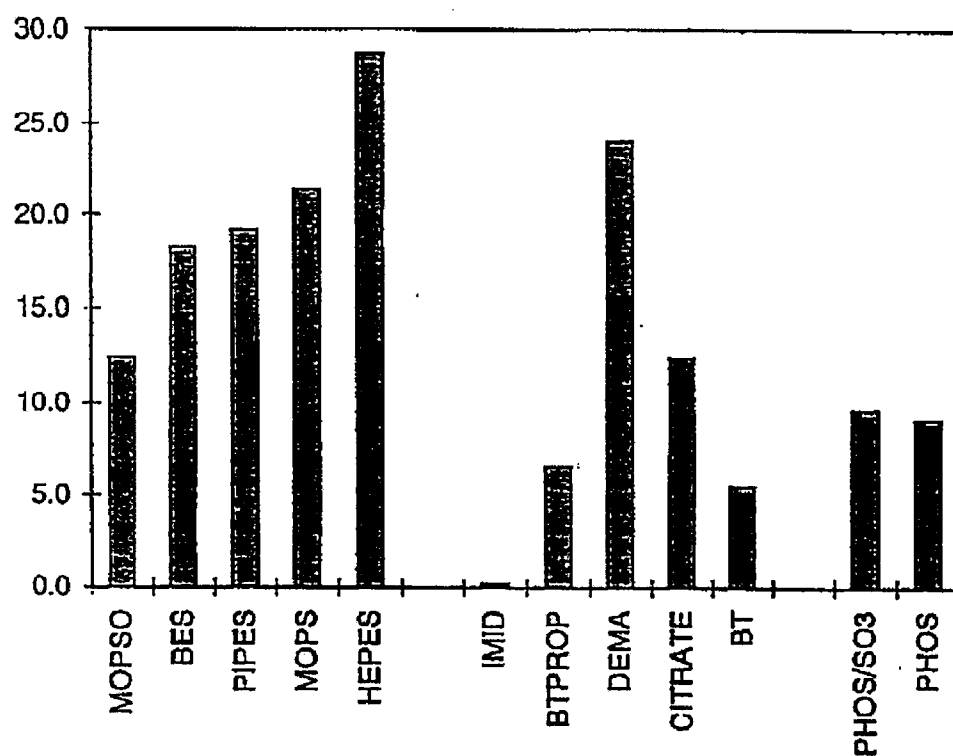
図 1



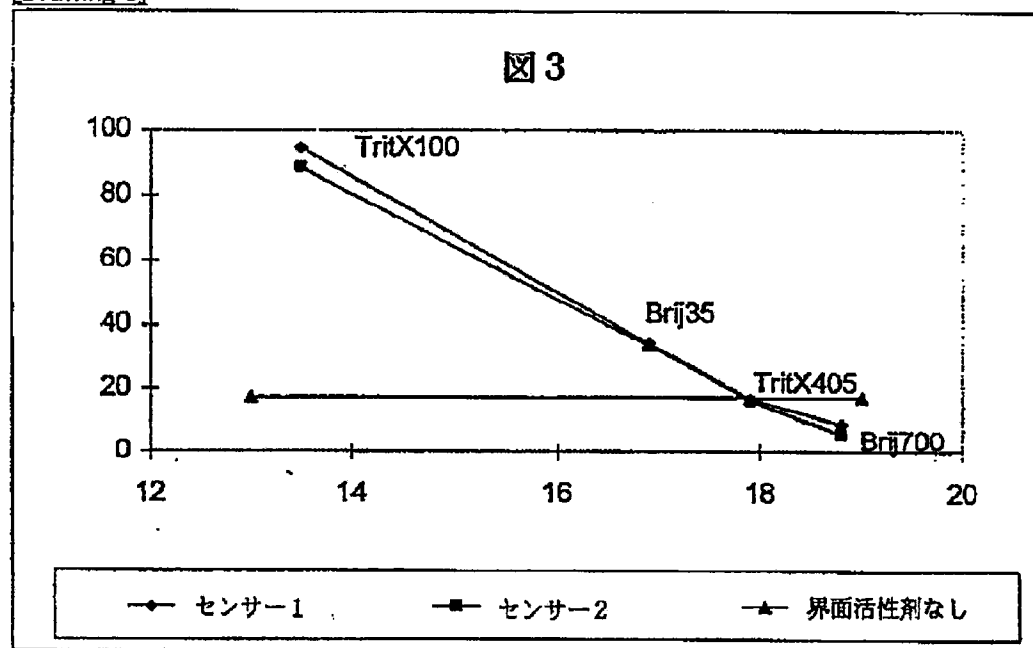
□ バッファ + バッファ無し

[Drawing 2]

図 2

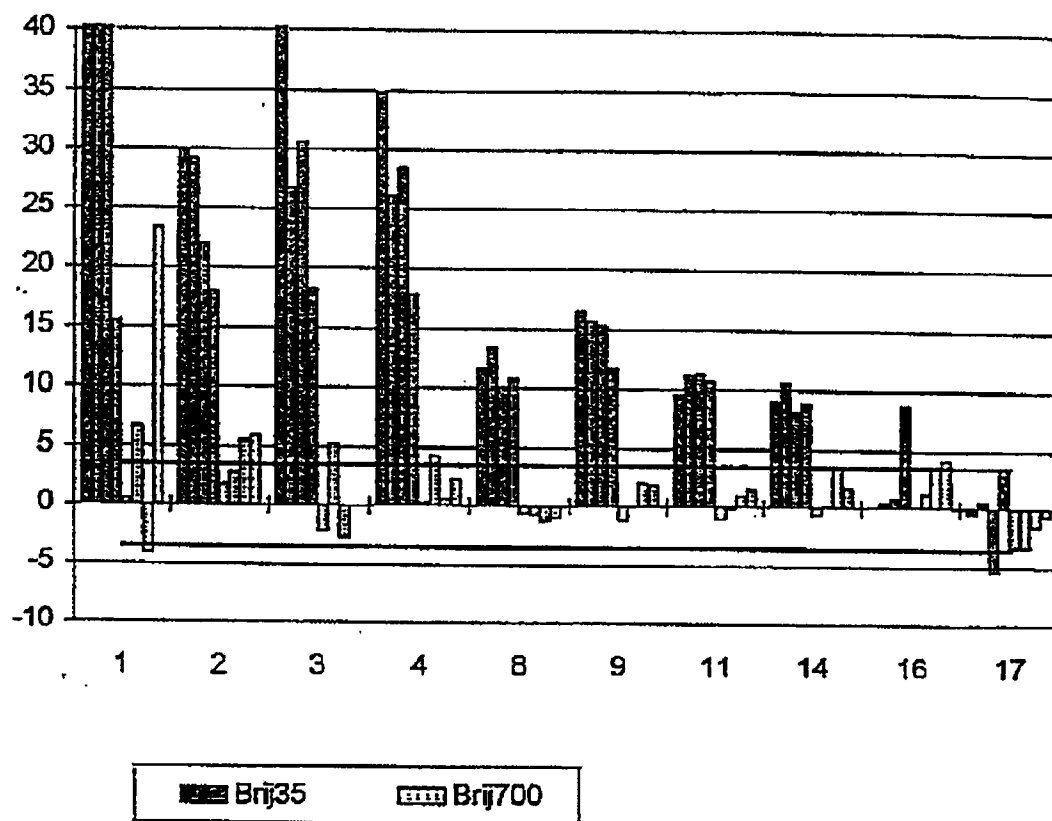


[Drawing 3]



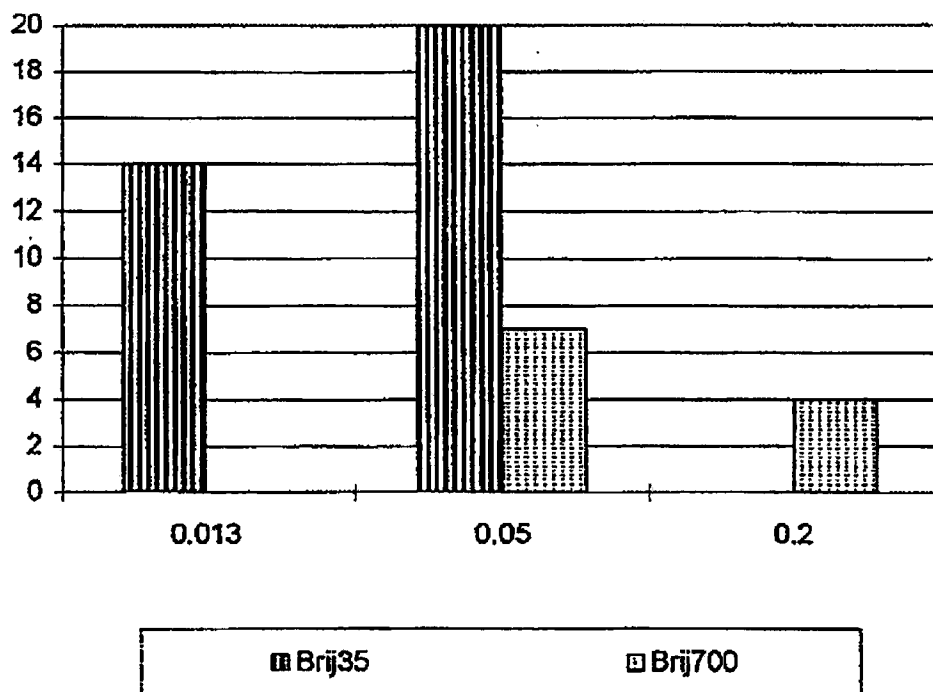
[Drawing 4]

図 4



[Drawing 5]

図 5



[Translation done.]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表平10-507750

(43) 公表日 平成10年(1998) 7月28日

(51) Int.Cl.⁵
A 0 1 N 43/80
43/50
// C 1 2 Q 1/00
(A 0 1 N 43/80
43: 50

識別記号

F I

A 0 1 N 43/80
43/50
C 1 2 Q 1/00

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 25 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平8-513760
(86) (22) 出願日 平成7年(1995)10月23日
(85) 翻訳文提出日 平成9年(1997)4月24日
(86) 国際出願番号 PCT/IB95/00905
(87) 国際公開番号 WO96/12408
(87) 国際公開日 平成8年(1996)5月2日
(31) 優先権主張番号 08/327, 856
(32) 優先日 1994年10月24日
(33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 チロン ダイアグノスティクス コーポレ
ーション
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
02032 イースト ウォルポール コウニ
ー ストリート 333
(72) 発明者 アベル, アリソン エル
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
02368 ランドルフ ナンバー 6 ロイ
ヤル クレスト ドライブ 3
(74) 代理人 弁理士 柳田 征史 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 診療用診断システムにおいて促進された性能を有する試薬

(57) 【要約】

イミダゾールおよび関連するバッファーが、例えば、
(1) 5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンおよび2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンの混合物、または(2) 5-ブromo-5-ニトロ-1, 3-ジオキサン等の、診療用診断試薬において用いられている特定の防腐剤の活性を促進することが明らかとなった。これらのバッファー、および、BRIJ 700および関連した親水性界面活性剤等の特定の界面活性剤は、酵素バイオセンサーの精密さと正確さを促進することもまた発見された。

【特許請求の範囲】

1. イソチアゾリンまたはニトロブロモ化合物を含む製品中にイミダゾールまたはイミダゾール派生体を含むバッファー系を含有させることによる、前記製品の抗微生物活性を促進させる方法。
2. 前記抗微生物化合物がイソチアゾリンおよびニトロブロモ化合物の両方を含むことを特徴とする請求の範囲第1項記載の方法。
3. 前記製品が診療用診断試薬であることを特徴とする請求の範囲第2項記載の方法。
4. 前記イソチアゾリンが5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンおよび2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンの混合物であることを特徴とする請求の範囲第3項記載の方法。
5. 前記イソチアゾリン群の濃度が溶液の1-25 ppmの間であることを特徴とする請求の範囲第4項記載の方法。
6. 前記濃度が10-25 ppmの間であることを特徴とする請求の範囲第5項記載の方法。
7. 前記濃度が16-20 ppmの間であることを特徴とする請求の範囲第6項記載の方法。
8. 前記ニトロブロモ化合物が5-ブロモ-5-ニトロ-1,3-ジオキサンであることを特徴とする請求の範囲第3項記載の方法。
9. 前記5-ブロモ-5-ニトロ-1,3-ジオキサンが溶液の30-250 ppmの間の濃度で存在することを特徴とする請求の範囲第8項記載の方法。
10. 前記5-ブロモ-5-ニトロ-1,3-ジオキサンが溶液の100-250 ppmの間に存在することを特徴とする請求の範囲第9項記載の方法。
11. 前記5-ブロモ-5-ニトロ-1,3-ジオキサンが溶液の180-220 ppmの間に存在することを特徴とする請求の範囲第10項記載の方法。
12. 前記バッファーシステムが5から70 mmol/l 溶液で存在することを特徴とする請求の範囲第1項記載の方法。
13. 前記バッファーシステムが40から60 mmol/l 溶液で存在することを

特徴とする請求の範囲第12項記載の方法。

14. 前記バッファーシステムが48から58mmol/lで存在することを特徴とする請求の範囲第13項記載の方法。

15. 診療用診断試薬中にイミダゾールまたはイミダゾール派生体から成るバッファー系を含有させることによる、前記診療用診断試薬の抗微生物活性を促進させる方法であって、前記抗微生物化合物が(1)1-25ppmの濃度で存在している5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンおよび2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンの混合物、および(2)30-250ppmの濃度で存在している5-ブロモ-5-ニトロ-1,3-ジオキサンであり、前記バッファー系が48から58mmol/lの濃度で存在していることを特徴とする方法。

16. イミダゾールまたはその派生体を含む試薬を用いることによる、グルコースまたは乳酸電気化学的バイオセンサーの反応を安定化させる方法。

17. 前記試薬が付加的に親水性界面活性剤を含んでいることを特徴とする請求の範囲第16項記載の方法。

18. 前記親水性界面活性剤が18以上のHLBを有することを特徴とする請求の範囲第17項記載の方法。

19. 前記界面活性剤がポリオキシエチレン(100)ステアリルエーテルであることを特徴とする請求の範囲第18項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

診療用診断システムにおいて促進された性能を有する試薬

概要

イミダゾールおよび関連するバッファーが、例えば、(1) 5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンおよび2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンの混合物、または(2) 5-ブロモ-5-ニトロ-1, 3-ジオキサン等の、診療用診断試薬において用いられている特定の防腐剤の活性を促進することが明らかとなった。これらのバッファー、および、BRIJ 700および関連した親水性界面活性剤等の特定の界面活性剤は、酵素バイオセンサーの精密さと正確さを促進することもまた発見された。

背景

診療用診断器具とは、ヒト血液、血清およびその他の液体中の分析対象の存在および量を測定するために用いられるものである。測定されるべき分析対象には、ナトリウム、カリウム、カルシウム、塩素、その他の電解質、グルコース、乳酸、コレステロール、脂質（トリグリセリド等）、および尿酸等が含まれるが、これに限定されるものではない。加えて、器具は、pHおよびこれらの液体中に溶解している気体の濃度の測定にも用いられる。多くの他の分析対象および象徴物 (a t t r i b u t e s) もまた、これらの器具によって測定される。ヒトの健康状態の指標である新規な物理的および化学的特性を同定する理論が頻繁に発見されており、これらの新規象徴物のための分析的技術が、これらの器具においての利用のために開発されている。関心の対象である分析対象の濃度を決定する器具の実際の構成要素は、しばしば電極またはセンサーと呼ばれる。これらのセンサーのための分析対象の典型的な測定は電気化学的であるが、光学的であるかまたは他の物理的または化学的性質の測定に関与していても良い。センサーは、時々複合体であってもよく、いくつかのシステムを統合する。例えば、1つの酵素がセンサーマトリックスに結合されていて分析対象を分解を触媒し、それにより続いて測定され得る成分を発生させる場合があるかもしれない。

分析対象の成功した測定は、器具、センサーおよび試薬の相互作用に左右され

る。試薬は特に重要であるが、それは、試薬はセンサーと器具の両方の性能に影響するからである。診療用診断器具上での分析の実行に必要である試薬のいくつかには、校正試料（前出の校正器を用いてアッセイを行えるよう、その濃度に対する器具の所定の反応点を固定するための、関心の対象である分析対象を特定の濃度で含むよう配合された試薬）、対照製品（分析用の試料と共にアッセイされ、アッセイが適切に作用しているか否かを決定するための製品）、および分析対象との化学的または物理的反応をもたらすことを引き起こす分析用試薬（バッファー、化学反応物質等を含む）が含まれる。その他の試薬には、試験試料を器具から洗浄するための洗浄溶液が含まれる。これらの試薬のいくつかは、測定されている成分の環境を含むかまたは刺激する環境中に配合されている。（例えば、あるものは特定のイオン強度および特定のpHの血清中に配合されているかもしれない、他のものは特定の脂質親和性の内容物を有しているかもしれない。）これらの試薬は、手動によるアッセイに用いられる試薬と同じ種類のものであり、そしてそれゆえ、ここでの議論が自動化されたものを含む診療用診断器具のための試薬に集中してはいるが、同じ事が手動での分析技術に応用可能である。

上記の試薬の多くが、それらの貯蔵寿命を延ばすために保存剤とともに配合されているが、これは試薬が微生物的増殖を補助するであろう栄養を含有しているからである。本出願は、特定のバッファー、イミダゾールまたはその派生体、が配合物中に用いられた場合に性能が促進されることが予想外に発見されたところの、混合された保存性システムの効率に関するものである。また本出願は、これらのバッファーおよび特定の界面活性剤、Br i j 7 0 0 が、どのように酵素バイオセンサーの精密さと正確さを促進させるかということに関する。

E P - A - 4 6 7 3 3 7 は、少なくとも2つの保存剤を含む診断用試験キットのための保存システムを開示している。しかしながら、抗微生物活性を促進するバッファーは特定されていない。G B - A - 2 0 1 8 9 8 9 は、診療用診断試験の校正において用いるための尿酸溶液の安定化においてイミダゾールを利用することを開示しているが、本発明に従った、バイオセンサー中の電気化学反応の安定化とは関係が無い。D D - A - 2 3 7 3 2 5 は、ヘム酵素の安定化媒体として

のイミダゾールの使用を開示しているが、水性校正試料に対するバイオセンサーの電気化学的反応を安定化することに関しては示唆されていない。Clinical Chemistry Vol. 25-1, 1979, Pages 127-129は、非イオン性洗剤を、Beckman分析器を用いたグルコースのポーラログラフ的決定のための試薬溶液を安定化させるために利用することが記載されている。この明細書中で特定されている非イオン性界面活性剤は、加湿薬として用いられている。この文献および界面活性剤に関連している他の先行技術は、バイオセンサーに対する反応を安定化する方法における利用を示唆するものではなく、むしろ洗剤効果のための加湿薬として、即ち、例えばそれらは試験装置からの血液試料の除去をなすものとして使用することを提案している。通常、界面活性剤は、加湿性および洗剤性のために選択が成された場合は、18より少ない親水性／親油性バランスを有して選択される。18以上のHLBを有する特定の型の界面活性剤を、その界面活性剤がバイオセンサーの電気化学的反応を安定化するよう働く本発明の方法において用いることを示唆するものは先行技術にはない。

図面の簡単な説明

図1は、グルコース拡散制限膜無しのグルコースバイオセンサーに対する、緩衝されたv s 緩衝されていない反応を示している。図2は、診療用診断試薬において用いられている他の一般のバッファーと比較した、イミダゾールに対するセンサー反応における改善された安定性を示している。図3は、界面活性剤HLBの関数としての、10の血液試料にわたるセンサー反応における%変化（陽性ドリフト）を、lab-ベンチ試験システム上で得られた結果とともに示している。図4は、Brj35およびBrj700とともにあるグルコースバイオセンサーの性能の比較を示す。図5は、等モルおよび同じ質量のBrj35およびBrj700に対するセンサー反応を示す。

詳細な説明

診療用診断の目的に用いられる試薬は、多様な成分、即ち塩（例えば、塩化ナ

トリウム、塩化カリウム、酢酸カルシウム、酢酸ナトリウムその他を、特定のイ

オンの所望のレベルを提供するために十分な量で)、多様な代謝物(例えばグルコースや乳酸)、界面活性剤、バッファー、および水を含んでいる。全ての試薬がこれらの成分全てを含有するものではなく、他の試薬は付加的な内容物を含んでいる。特に、市販されているものはしばしば、1またはそれ以上の保存剤を、それらの貯蔵寿命を延ばすために含んでいる。

何れの代謝物も、本製品に取り込むための候補であることに注意されたい。しかしながら、いくつかの特別な事前に注意することを要する、いくつかの反応性および相互作用関係がある。例えば、アルブミン等のいくつかのタンパク質は溶液中で常に安定であるのではなく、潜在的に不安定な溶液を冷蔵庫中で貯蔵することが必要であろう。加えて、いくつかのタンパク質は保存剤に結合し、それゆえ、後者の有効性を減少させる。

製品によって、分析対象の様々な濃度を調製した。濃度の標的は一般に、体内で見られる分析対象の通常レベルかまたは、異常レベル(低および増加されたレベルを含む)の何れかである。いくつかの対照製品(例えば通常または異常)で、両方の濃度レベルでセンサーが機能するか否かを決定するために用いられ得るものを調製してもよい。例えば、塩素については、期待される通常の範囲が70-120 mmol/lであり、典型的な器具におけるセンサーは30から150 mmol/lの範囲にわたって測定可能である。「通常」対照は100 mmol/lで配合され得るし、一方で「増加された」対照は140 mmol/lで配合され得る。さらには、実験室の必要により、対照製品に配合され得る分析対象の無数の組合せがある。勿論、関心の持たれている分析対象の分析に干渉する恐れのある分析対象が排除されているか、または少なくとも最小の干渉効果があるような低いレベルで存在していることを確認するよう注意されていなければならない。例えば、塩素の対照の調製においては、硝酸塩、亜硝酸塩が排除または最少化されていなければならない。加えて、安定性や製造の容易さを妨害する因子は避けるべきである。

診断試薬で用いられた場合、考慮されるべきいくつかの重要な界面活性剤の側面がある。第1には、界面活性剤を含有することによって派生する利益があり、

即ち、それは、例えば器具の経路またはセンサー等の、試料と接触していた器具の一部の洗浄を改善し、そして試料同士の汚染を減少させるものである。第2に、界面活性剤の選択において、それがセンサーと共存可能であるか否かを決定することが重要である。第3に、界面活性剤は器具およびセンサーの性能を最適化するために一般に用いられている（例えば、液体の制御、ウェットアップ（wet-up）またはセンサー表面の加湿）。診断システムとの共存性を確実なものとするために評価されなければならない界面活性剤の一面には、界面活性剤の親水性／親油性が含まれる。界面活性剤の中で、ポリオキシエチレン（100）ステアリルエーテルについて考えることにする。（これは、ICI Americas および他の供給元からBRIJ 700として入手可能である。）この界面活性剤はセンサーおよび器具の両方に、その親水的／親油的性質により作用する。親油的性質は診断システムにおいてしばしば望まれるが、それは親油性生物学的試料および水輸送を要するバイオセンサーのウェットアップ（水素化）が改善されるからである。他方、血液ガスおよびイオン感受性電極（ISE）等のいくつかのシステムにおいては、適切な親水性／親油性バランスが、センサーの重要な成分の加湿および抽出を防ぐために要求される。界面活性剤はそれらの親水性／親油性性質またはバランス（HLB）により特徴づけられ、それは親水的性質の相対量の尺度である。非イオン性界面活性剤のHLB値は0から20の範囲にあり、そこにおいて0とは0%の親水的性質を表している。診断試薬に一般に用いられる界面活性剤は13-17の範囲にあるHLBを有し、このような一般に用いられている界面活性剤の例には、TRITON X-100（オクチルフェノキシポリエトキシエタノール、Union Carbide Chemicals and Plastics Co., Inc. より入手可能）、13.5のHLBを有する；BRIJ 35（ポリオキシエチレン（23）ラウリルエーテル、ICI Americas から入手可能）16.9のHLB；およびTWEEN 20（ポリオキシエチレン（20）ソルビタンモノラウレート、ICI Americas から入手可能）16.9のHLB；が含まれる。

親水性界面活性剤（BRIJ 700等）は、洗浄および校正試料溶液に添加された場合、生物学的試料測定の際に、バイオセンサーの促進された精密さおよび正

確さを提供することが判明した。TRITON X-100およびBR I J 35等の、より親油的な界面活性剤を含有する試薬は、所望の分析対象に対するセンサー反応を低下させ（即ち、勾配が減少され）、そして生物学的試料に繰り返して接触させた場合に、センサーがドリフトを示すことを引き起こした。BR I J 700のセンサー促進効果は界面活性剤の親水性／親油性バランスおよび液相とセンサーとの間の区切りに関連していると信じられている。いくらかは電極の構築に依存しているであろうが、親油性界面活性剤は、水性校正試料からセンサーまでを分断し、続いて親水的界面活性剤より親油的試料（血液等）に放出するという大きな傾向を有していたのであろう。界面活性剤BR I J 700はバッファ一種をセンサー電極へ輸送することを実現するかもしれないこともまた信じられている。

技術の現状では、界面活性剤の利用は、グルコースおよび乳酸等の特定のバイオセンサーの性能に不安定性をもたらすものであることに注意されたい。（Yellow Spring Instrument、グルコース乳酸分析器利用者マニュアル、モデル2300 Stat plus、1992年2月、p. C-3を参照されたい。）本発明において示されたように、我々は、Yellow Spring Instrumentの文献に引用された不利益に遭遇することなしに、界面活性剤の有用な性質を利用するために界面活性剤を利用する方法を発見した。

BR I J 700および関連した界面活性剤について上記のバイオセンサー上で示された利益に加えて、診療用分析器において用いられている多くの他のセンサーにおいても、同様の利益がある。多くの場合に、特にカルシウム、恐らくはカリウムについても、センサーの故障は、親油性界面活性剤およびタンパク質含有生物学的試料による1またはそれ以上の成分の抽出によるものである。BR I J 700および他の関連した親水性界面活性剤は、キーである重要な成分の抽出比率の減少により、これらのセンサーの使用寿命を延ばすであろうことが信じられている。

多くの異なった保存剤が診断試薬において用いられてきている。これらには、

(a) 5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン、(b) 2-メ

チルー4-イソチアゾリン-3-オン、および(c) 5-ブロモ-5-ニトロ-1, 3-ジオキサン等が含まれるが、これに限定されるわけではない。(a) および(b) の、約3:1の比での混合物は、Rohm & Haasより、KATHON CG、PROCLIN 300およびPROCLIN 150等の様々な商品名で市販されており、それらはその混合物の配合に用いられた安定化剤および活性な内容物に影響しない他の要素により、互いに異なっている。この製品の一族(ここでは「Kathon」と称する)は、イソチアゾリンとして知られているクラスの一員であり、その性能はこの全体のクラスの代表的なものである。保存剤(c)はHenkelより、商品名Bronidox L(液状の場合)およびBRONIDOX K(結晶)として市販されており、ここでは「Bronidox」と称する。Bronidoxは、ニトロブロモ化合物として知られているクラスの一員であり、その代表として作用する。

診療アッセイに用いられる数多くの製品は、生じる化学反応が期待されているものであることを確実とするため、またはアッセイされている生物学的液体のpHを擬するため、または安定なバイオセンサーの反応を確実とするため、の何れかの目的で、pHを制御しなければならない。対照および校正試料は、特に、血清または分析されている他の体液にあうように可能な限り近く配合されている。その結果、数多くの診療用診断試薬においてバッファーが用いられている。一旦試薬の所望のpHが判明したら、化学者はそこから選択すべき数多くのバッファーを有している。典型的には、6.5から7.5のpH範囲においては、バッファーは以下の1つとなるであろう：リン酸；ACES；ADA；(2-アミノエチル)トリメチルアンモニウムクロリド；ヒ酸；BES；N, N'-ビス(3-スルホプロピル)エチレンジアミン；ビスートリス；ビスートリス-プロパン；2, 3-ジヒドロキシプロピル-トリス-(ヒドロキシメチル)メチルアミン；ジメチルアミノエチルアミン；3, 6-エンドメチレン-1, 2, 3, 6-テトラヒドロフタル酸；エチレンジアミン；グリセロール-2-リン酸；HEPES；MOPS；MOPSO；p-ニトロフェニル；PIPES；TES；TRIS；および2, 4, 6-トリメチルピリジン。(Perrin et al, Buffers for pH and Metal Ion Control, 1

74、Chapman & Hall, Ltd., p. 161、バッファーの化合物名のために参照されたい。) しかしながら、ある種のバッファーは、それらは6.5から7.5のpH範囲においてpHを制御しうるが、生物学的システムにおいての利用には適切であるとは考えられてはいない。例えば、イミダゾールは、37℃で6.75のpKaを有しているが、生物学的システムにおいては、十分であるにはあまりに反応性であり不安定であると考えられている。(Perrin et al, 前出、p. 59を参照されたい。)

イミダゾールは、これまでは生物学的アッセイとは併存できないと疑われていたが、Kathon、Bronidox、およびそれらの混合物を含む数多くの保存剤の抗微生物活性を促進させることが予想外に発見された。イミダゾールは、それ自体は何れの公知の抗微生物的性質を有しないが(この研究の一部として試験を行ったが、保存性の活性が見られないことを確認した)、そのバッファーとしての前述のシステムにおける使用は、保存剤の抗微生物能力を改善する。

抗微生物活性で改善を示している好ましい診断用製品は、約6.5から7.5の範囲にあるpH(約6.00から8.00のpKa)を有しており、5から50mmol/lの緩衝能力; 0.150から0.230の範囲のイオン強度; を有し、電解質値は通常のヒトの範囲(100-150mmolのNa⁺、2.0-8.0mmol/lのK⁺、70-120mmol/lのCl⁻、および0.5-2.00mmol/lのCa⁺)であった。保存性活性を促進することが判明したのはイミダゾールのみではなく、関連したバッファー(37℃で7.24のpKaを有する4-メチルイミダゾール等)もまた同様の効果を有することが判明した。

製品の保存性能力を評価するため、一連の試験を行った。第1に、この試験の目的が保存性能力の評価であると定義したが、同じ試験は、抗微生物保存効率試験と呼ばれてもよいことに注意されたい。(最少阻止濃度(MIC)、最少殺菌濃度(MBC)または保存性投与(PC)試験のためのU. S. 薬局方の詳細を参照されたい。) おおのこの保存剤は、幅広い微生物の範囲の組合せを考慮した

場合、作用活性の固有の指紋を有している。ここで行われた試験は無数であり、いくつかの微生物のみが用いられたが、これらの微生物に対する作用が、幅広い

微生物に対する作用を代表していると考えられる。ここで試験された微生物はスタフィロコッカス、シュードモナス、カビ、酵母およびグラム陽性桿菌であり、それはこれらは、考慮されている製品（対照製品等）の合成、使用、および貯蔵においてもっとも遭遇しやすい属であると考えられているからである。試験において用いられた実際の微生物は、以下の実施例においてより詳細に議論されている。

抗微生物有効性を評価するために行われた試験の1つの型は、保存寿命の終りを測定するための試験を含んでいた。この試験は、保存剤を様々な濃度で悪化しうるようにし、様々な濃度レベルで活性が見られなくなるまでの有効性を評価するものである。このように、保存剤の有効濃度が低ければ低いほど、その保存システムはよく機能しているのである。

アゾールとして知られているクラスの保存剤は、いくらかイミダゾールに化学的に関連していて、調査された製品の型において抗微生物活性を有する。しかしながら、多くのアゾール（4-（2-ベンズイミダゾリル）チアゾール等）は、外見と溶解度のため、いくつかの製品においては保存剤として考えに入れなかった。その一方で、イミダゾールおよびその関連バッファーは抗微生物活性を有していなかった。

広い範囲のBronidoxおよびKathonが、様々なレベルのイミダゾールによってそれらの活性を促進された。約5-70mmol/lのイミダゾールが、約30-250ppmのBronidoxおよび/または約1-25ppmのKathonの保存能力を促進することが判明した。（主要な安定化剤の型が異なっているいくつかの異なったKathonがあることに留意されたい。ほとんどが、特にKathon SF（またはKSF）、ProClin 300とも呼ばれるものが、本発明において使用できるように見えた。好ましくは約40-60mmol/lのイミダゾールが、約100-250ppmのBronidoxおよび/または約10-25ppmのKSFの能力を促進させるために用

いられた。最も好ましい対照製品の組成は、180-220 ppmのBronidoxおよび／または約16-20 ppmのKSFの能力を促進させるために用いられている約48-58 mmol/lのイミダゾールである。

保存剤と様々なバッファーとの共存性を、手動および自動化された手順の両方において、および、センサーまたは電極を利用したものを含む様々な器具において使用された溶液上で試験した。何れのセンサーまたは何れの他の器具においても、観察された有害な影響は存在しなかった。

イミダゾールおよび関連するバッファーの、付加的で予想外であった利点は、これらのバッファーが、水性校正試料に対するバイオセンサー（グルコース等）の反応を安定化することである。機構はまだ理解されていないが、これらのバッファーは、局地的センサーのpHを、リン酸や両性バッファー等の従来の診療用診断バッファーより良好に制御していると信じられている。pHのコントロールは、バイオセンサーの性能には重要であるが、それは酵素および過酸化物酸化反応の両方が、酵素／分析対象反応および過酸化物検出スキームの間に酸を発生させることがあり、pH依存性をしめすからである。6.8のpHで開始すると、過酸化物酸化および典型的なバイオセンサー酵素（グルコースオキシダーゼ、乳酸オキシダーゼ）は、pHが減少するに従って減少した活性／感度を示すが、これは酸が発生したからである。ある緩衝されていない環境においては、グルコースまたは乳酸に対するもの等の典型的なバイオセンサーは、分析対象に接触させた場合に減少した反応を示すであろう。緩衝されたv s 緩衝されていない、グルコース拡散制限膜の無いグルコースバイオセンサーのための水性グルコース試料に対する反応を、電流v s 秒での時間という単位で示している図1を参照されたい。（電流の単位はナノアンペアである；すなわち、目盛りの最大点は350ナノアンペアである。）グルコースオキシダーゼセンサーについて行った実験は、バッファー能力および種類の両方が、測定中にセンサーの安定性に影響することを示している。図2は、診療用診断試薬中で用いられている他の一般のバッファーと比較して、イミダゾールに対しては反応低下が大幅に減少している事を示している。（図2は、いくつかのバッファーについて読み取ったグルコースの%低

下を示している。)

以下の実施例は、イミダゾールおよび関連した製品による保存剤活性の促進、および同バッファーおよびBRIJ700および関連した界面活性剤によるバイオセンサー反応の促進の、様々な態様を示している。それらの変化型は当業者には自明である。これらの実施例は本発明の有用性を制限するために意図されていない。

実施例 1

対照製品の配合：

以下の対照製品にいくつかの分析対象を配合した：

| 比較配合物 | | | | | | | |
|-------------|--------|------|------|------|------|------|------|
| 化学物質 | 単位 | A | B | C | D | E | F |
| イミダゾール | mmol/L | 53 | 5 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| 4-メチルイミダゾール | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| MOPS | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 |
| HEPES | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 0 |
| NaCl | mmol/L | 67.6 | 91.1 | 96.0 | 96.0 | 96.0 | 91.4 |
| 酢酸ナトリウム | mmol/L | 72.4 | 48.9 | 44.0 | 42.1 | 41.2 | 48.6 |
| KCl | mmol/L | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 |
| 酢酸カルシウム | mmol/L | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 |
| 濃塩酸 | mmol/L | 28.4 | 2.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.0 |
| NaOH, 10N | mmol/L | 0 | 0 | 0 | 1.9 | 2.8 | 0 |
| 酢酸リチウム | mmol/L | 0.0 | 45.5 | 12.3 | 50.3 | 50.3 | 50.3 |
| グルコース | mmol/L | 10.0 | 10.0 | 0.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| 乳酸リチウム | mmol/L | 2.0 | 2.0 | 0.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| PROCLIN 300 | ppm | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 |
| BRONICDOX K | ppm | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| 界面活性剤 | % | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 |

これらの製品は、試薬を水に溶解させ、全てが完全に溶解するまで攪拌することにより調製した。全ての成分、特に界面活性剤と保存剤が完全に溶解したということを確認とするために注意すること必要である。さらに、溶液のpHは、実際に添加されたおのこの成分の安定性を維持し、溶解を可能とするために適切でなければならない。

実施例 2

対照製品の分析：

対照製品を、それらを手動アッセイ内で、またはそれらが使用される器具上で

使用することにより試験した。いくつかの器具または手動アッセイの工程にわたって試験することにより、数値を特定した。校正試料には、参照方法または各々の分析対象について認識された代用物により、数値を特定した。例えば、ナトリウムおよびカリウムの値は炎分光により特定された。

| 分析対象の値 | | | | | | | |
|-------------|--------|------|------|------|------|------|------|
| 変数 | 単位 | A | B | C | D | E | F |
| pH | pH | 6.8 | 6.8 | 7.15 | 6.8 | 7.4 | 7.4 |
| イオン強度 | mmol/L | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |
| ナトリウム | mmol/L | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 | 140 |
| カリウム | mmol/L | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 | 4.0 |
| カルシウム | mmol/L | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 | 1.25 |
| 塩素 | mmol/L | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| グルコース | mmol/L | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 | 10.0 |
| 乳酸 | mmol/L | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 | 2.0 |
| バッファー濃度 | mmol/L | 53.0 | 5.0 | 0.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| PROCLIN 300 | ppm | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 |
| BRONIDOX K | ppm | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 | 200 |

実施例 3

製品の貯蔵寿命

製品の貯蔵寿命は保存剤システムの有効性の1つの尺度である。貯蔵寿命は、部分的には、24時間で選択された生物の全滅をもたらすために必要な最少の濃度を実現するための、寿命の終りのMBC/PC試験に基づいている。これらの濃度は続いて、アレニウス分析において用いられ、その試薬がどのくらい長く使用可能であるかを決定した。より効果的な保存剤システムについては、より長い貯蔵寿命が期待される。加えて、寿命試験の終りにおいて、この殺菌を達成するために必要な濃度が低いほど、その保存剤システムはより効果的である。2つの異なったバッファースystemを評価した以下の表を参照されたい。(寿命の終りの試験は、24時間以内に微生物を全滅させるために必要な保存剤の最少量を示している。) 故に、イミダゾールバッファー存在下で観察されるより低い寿命の終りでの濃度は、イミダゾールがKathonの有効性を促進していることを示している。(33.7 ppmは寿命の終りの30.5 ppmと実質的に等量であ

ることに注意されたい。)

| バッファー | 貯蔵寿命 年@25℃ | | 寿命の終り MBC/PC(PPM) | |
|--------|---------------|----------|----------------------|----------|
| | KATHON | BRONIDOX | KATHON | BRONIDOX |
| MOPS | 0.8 | 1.3 | 6.23 | 30.5 |
| イミダゾール | 2.3 | 3.7 | 1.30 | 33.7 |

実施例 4

グルコースバイオセンサーの使用：

バイオセンサー実験を、lab-bench 手動試料注入システムまたは診療用分析器の何れかにおいてグルコースセンサーを用いて行った。用いられたグルコースセンサーはプラチナ化炭素アノード、Ag/AgCl 参照、それとともにプラチナカウンター電極から成る三極装置であった。酵素グルコースオキシダーゼ (GOD) が、表面への吸収またはアノード製造の間の混合によってアノードに充填された。バイオセンサーは、例えば、シリコン、ポリウレタン、セルロース酢酸、Nafion、ポリエステルスルホン酸 (Kodak AQ)、ヒドロゲルまたは当業者に知られている他の何れかの膜等の、グルコース制限膜によって腐敗から防護されている。

バイオセンサーの反応に対する界面活性剤の効果の影響：

界面活性剤 TRITON X-100 および BRIJ 35 を含む試薬を、典型的なバイオセンサー (グルコース等) の反応に対するそれらの効果を決定するために評価した。データは以下の表に示されており、TRITON X100 は BRIJ 35 よりも勾配を減少させた。

| 校正試料の界面活性剤 | グルコースセンサー 勾配 - nA/mg/dL | %変化 |
|-------------|----------------------------|-----|
| 界面活性剤なし | 0.69 | 0% |
| BRIJ 35 | 0.63 | 9% |
| TRITON X100 | 0.54 | 22% |

界面活性剤を条件設定した後、繰り返しての生物学的試料に接触させた場合、センサーは勾配において陽性ドリフトを示した。ドリフトの規模は界面活性剤の HLB に直接的に相関していることが判明した。図 3 は、10 の血液試料にわたるセンサー反応における % 変化 (陽性ドリフト) を界面活性剤の HLB の関数と

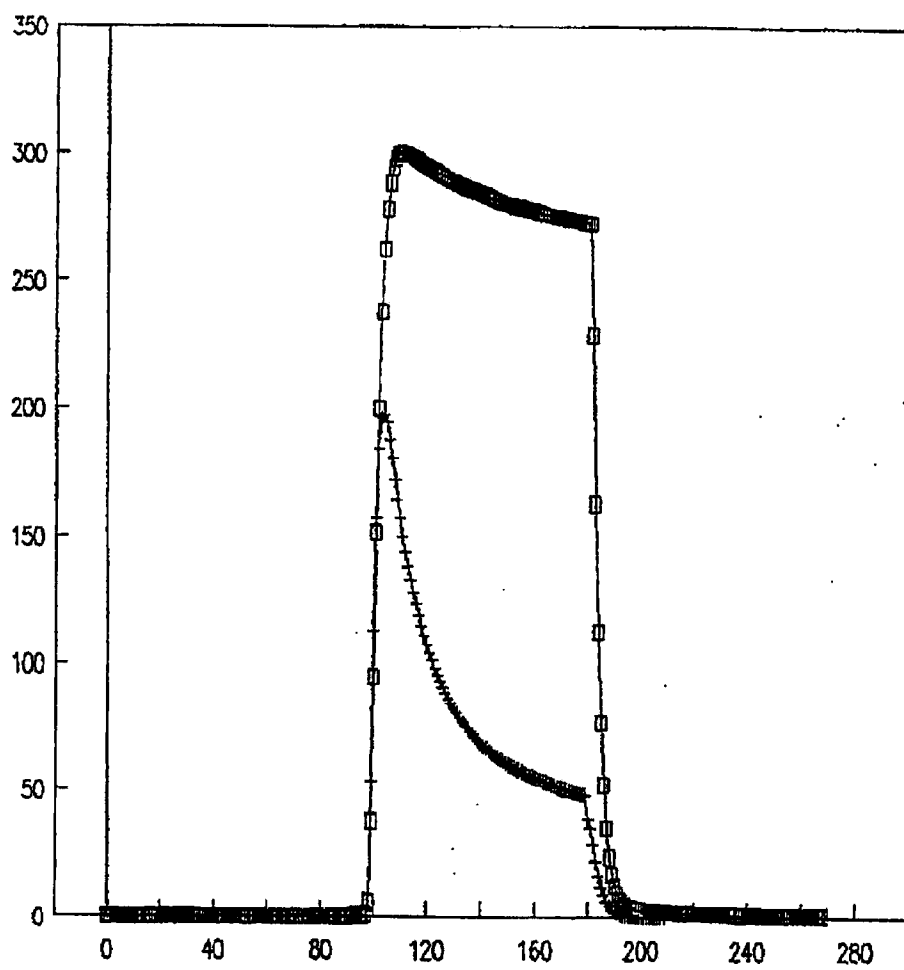
して、l a b - b e n c h システム上で得られた結果とともに示している。このデータは、センサーが18より大きいHLBを有している界面活性剤に接触された場合は、ドリフトは、何れの界面活性剤も存在しない場合に得られるものと同程度かまたはより少ないものであることを示している。本発明にとっては好ましい界面活性剤であるBR I J 7 0 0 は、センサーの寿命にわたってセンサーのドリフトを最少化する。(図4はBR I J 3 5 およびBR I J 7 0 0 についてのグルコースバイオセンサーの性能の比較を、%ドリフト v s 日数での時間という単位を用いて示している。各々の時間は、各々の界面活性剤システムを評価している4つのセンサーについてのデータを示している。) 界面活性剤の濃度もまた重要であり、増加された濃度でのBR I J 7 0 0 については、増加されたBR T J 3 5 について得られた増加されたドリフトに対して減少されたドリフトを示している。このことは図5に示されており、等モルおよび等しい質量のBR I J 3 5 およびBR I J 7 0 0 に対する%ドリフトで示されたセンサー反応を示している。BR I J 7 0 0 について評価された濃度は0.01-1.0 w t % の範囲にあったが、好ましい範囲は0.1-0.3 w t % と判明した。

診療用診断センサー(酵素バイオセンサー等)の促進された性能を提供するための校正および洗浄溶液の配合を以下に示す。

| 化学物質 | 単位 | 校正試料 | 洗浄 | 範囲 | 好ましい範囲 |
|------------|--------|------|-----|----------|---------|
| ミタザール | mmol/L | 53.0 | 0.0 | 10-100 | 40-60 |
| BR I J 700 | %wt | 0.2 | 0.2 | 0.01-1.0 | 0.1-0.3 |

【図1】

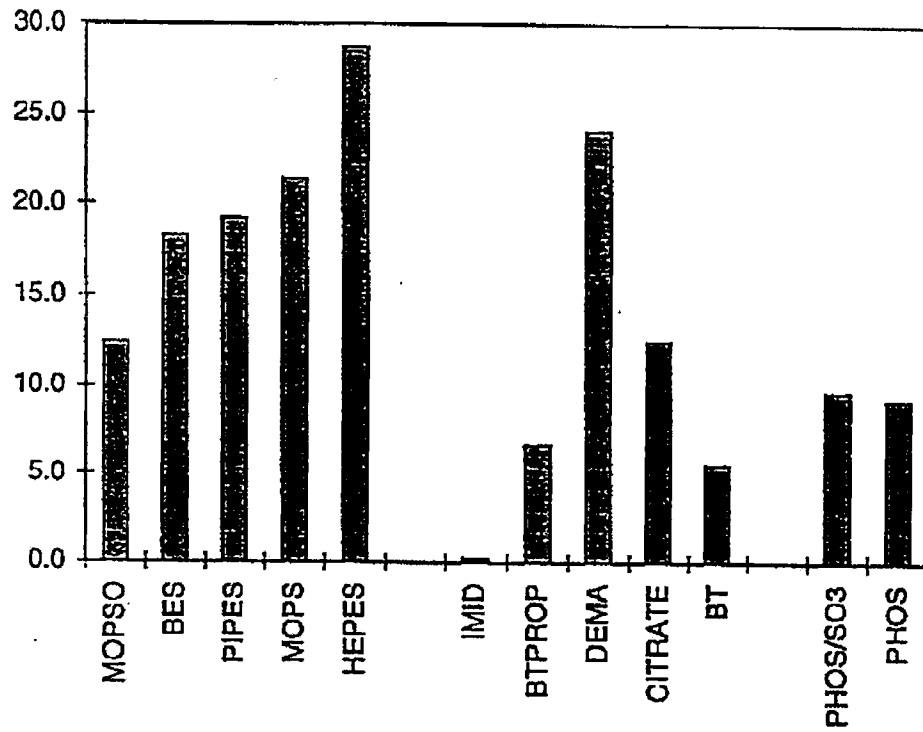
図1



□ バッファー + バッファー無し

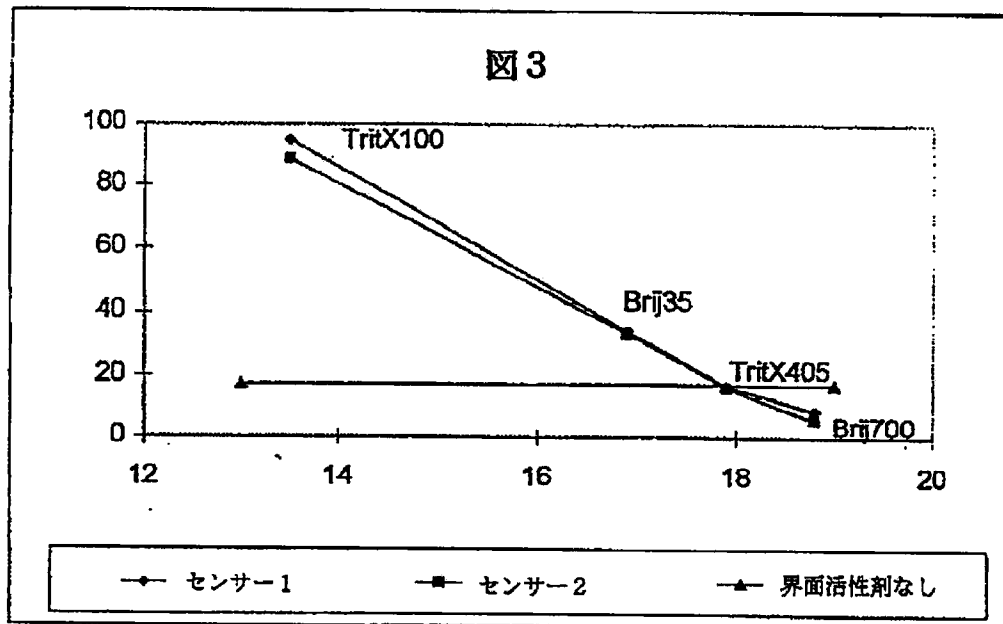
【図2】

図2



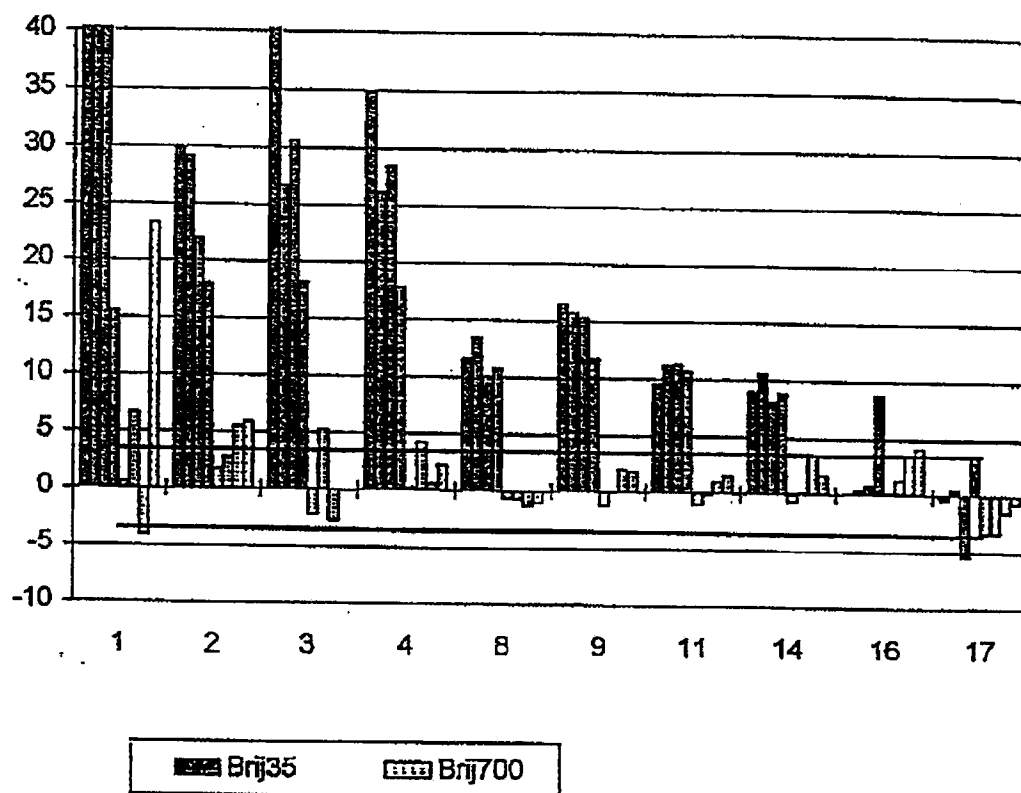
【図3】

図3



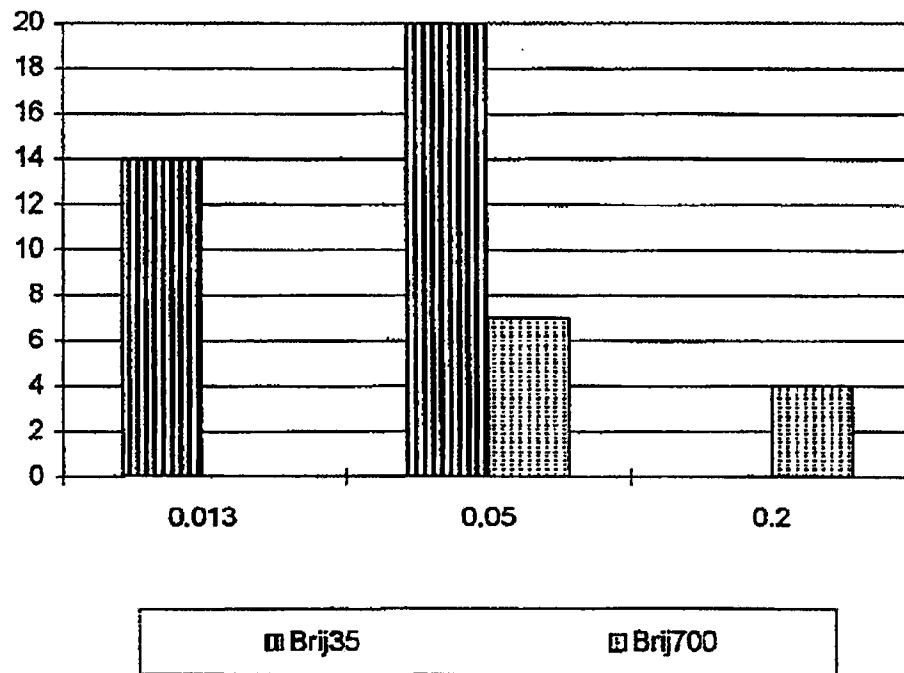
【図4】

図4



【図5】

図5



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

| International Application No. PL/IB 95/00905 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|--|-----|--|--|-----|--|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A01N43/80 A01N43/50 G01N33/48 C12Q1/00 //(A01N43/80, 43:50, 43:32), (A01N43/50, 43:32) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A01N C12Q | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>GB,A,2 018 989 (PIERCE CHEMICAL COMPANY) 24 October 1979 see page 1, lines 3-6, 39-55, 76-89, 102-113 see claims</td> <td>16</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>EP,A,0 467 337 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 22 January 1992 see page 2 - page 3, line 13 see pages 20-21, table see claims</td> <td>1-20</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>US,A,4 906 651 (J.C.HSU) 6 March 1990 see column 1, line 59 - column 2, line 60; table 2 see claims</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">---</td> <td></td> </tr> <tr> <td></td> <td style="text-align: center;">-/-</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | X | GB,A,2 018 989 (PIERCE CHEMICAL COMPANY) 24 October 1979 see page 1, lines 3-6, 39-55, 76-89, 102-113 see claims | 16 | A | EP,A,0 467 337 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 22 January 1992 see page 2 - page 3, line 13 see pages 20-21, table see claims | 1-20 | A | US,A,4 906 651 (J.C.HSU) 6 March 1990 see column 1, line 59 - column 2, line 60; table 2 see claims | 1-15 | | --- | | | -/- | |
| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| X | GB,A,2 018 989 (PIERCE CHEMICAL COMPANY) 24 October 1979 see page 1, lines 3-6, 39-55, 76-89, 102-113 see claims | 16 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A | EP,A,0 467 337 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 22 January 1992 see page 2 - page 3, line 13 see pages 20-21, table see claims | 1-20 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| A | US,A,4 906 651 (J.C.HSU) 6 March 1990 see column 1, line 59 - column 2, line 60; table 2 see claims | 1-15 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | --- | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | -/- | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| * Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "D" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to substantiate the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "A" document member of the same patent family | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Date of the actual completion of the international search | Date of mailing of the international search report | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 8 February 1996 | 16.02.96 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tlx. 31 431 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016 | Authorized officer Mueitners, W | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/IB 95/00905

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category * | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Relevant to claim No. |
|------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A | DD,A,262 978 (AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN DER DDR) 21 December 1988 see the whole document --- | 16-20 |
| A | ANALYTICAL LETTERS, vol. 19, no. 3&4, 1986 pages 461-478, I.HANNING ET AL.: 'Improved Blood Compatibility at a Glucose Enzyme Electrode Used for Extracorporeal Monitoring' see page 461 see page 463 - page 464, paragraph 1 see page 471, lines 8-10 and page 472, table 2 --- | 16-20 |
| A | DD,A,237 325 (VEB SÄCHSISCHES SERUMWERK DRESDEN) 9 July 1986 see the whole document --- | 16-20 |
| A | CLINICAL CHEMISTRY, vol. 24, 1978 K.S.CHUA & I.K.TAN 'Plasma Glucose Measurement with the Yellow Springs Glucose Analyzer' see the whole document --- | 16-20 |
| A | CLINICAL CHEMISTRY, vol. 25, no. 1, 1979 pages 127-129, L.L.BAJEMA ET AL. 'Detergent-Containing Glucose Oxidase Reagent for Use with the Beckman Glucose Analyzer' see the whole document --- | 18-20 |
| A,P | CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 122, no. 17, 24 April 1995 Columbus, Ohio, US; abstract no. 208181, WALLIN, RONNIE ET AL. 'Stabilization of glucose oxidase by entrapment in a cubic liquid crystalline phase' see abstract A & BIOCATALYSIS (1993), 8(1), 73-80 , ----- | 18-20 |

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No.

PL/IB 95/00905

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|----------------------------------------|------------------|-------------------------|------------------|
| GB-A-2018989 | 24-10-79 | CA-A- 1119923 | 16-03-82 |
| EP-A-467337 | 22-01-92 | DE-A- 4022878 | 23-01-92 |
| | | JP-A- 4243804 | 31-08-92 |
| | | JP-B- 7078005 | 23-08-95 |
| | | US-A- 5300424 | 05-04-94 |
| US-A-4906651 | 06-03-90 | AT-T- 117506 | 15-02-95 |
| | | AU-B- 623715 | 21-05-92 |
| | | AU-B- 4686789 | 28-06-90 |
| | | CA-A- 2004825 | 22-06-90 |
| | | DE-D- 68920851 | 09-03-95 |
| | | DE-T- 68920851 | 31-08-95 |
| | | EP-A- 0375264 | 27-06-90 |
| | | ES-T- 2068906 | 01-05-95 |
| | | FI-B- 94208 | 28-04-95 |
| | | JP-A- 2221203 | 04-09-90 |
| | | PT-B- 92654 | 12-09-95 |
| | | US-A- 5278178 | 11-01-94 |
| | | US-A- 5322834 | 21-06-94 |
| | | US-A- 4990525 | 05-02-91 |
| | | US-A- 5132306 | 21-07-92 |
| | | US-A- 5190944 | 02-03-93 |
| | | US-A- 5246913 | 21-09-93 |
| DD-A-262978 | | NONE | |
| DD-A-237325 | | NONE | |

フロントページの続き

- (51) Int. Cl.⁶ 識別記号 F I
- A 0 1 N 43:32)
- (A 0 1 N 43/50
- 43:32)
- (81) 指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(KE, LS, MW, SD, SZ, U G), AL, AM, AT, AU, BB, BG, BR, B Y, CA, CH, CN, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, HU, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LK, LR, LT, LU, LV, M D, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, P L, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TT, UA, UG, US, UZ, VN
- (72) 発明者 デオラジオ, ボール エイ
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
 01756 メンドン コロニアル ドライヴ
 28
- (72) 発明者 ダンゼル, ボニー シー
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
 01770 シャーボーン プロスペクト ス
 トリート 88
- (72) 発明者 マッカフレイ, ロバート アール
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
 02038 フランクリン シャディー レー
 ン 18
- (72) 発明者 アレットスキー, ローラ エス
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ州
 01757 ミルフォード シャドーブルック
 レーン 9 ユニット 1